

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SABINA MOSER TRALAMAZZA

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS DO CAFÉ VERDE DE REGIÕES
CAFEEIRAS DO ESTADO DO PARANÁ

CURITIBA
2008

SABINA MOSER TRALAMAZZA

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS DO CAFÉ VERDE DE REGIÕES
CAFEEIRAS DO ESTADO DO PARANÁ

Monografia apresentada para obtenção
do título de Bacharel em Ciências
Biológicas, Departamento de Patologia
Básica, Setor de Ciências Biológicas,
da Universidade Federal do Paraná.
Orientadora : Prof^ª. Dr^ª. Ida Chapaval
Pimentel

CURITIBA
2008

“A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o mistério passará pela vida sem ver nada.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Irene, por todo amor que me foi dado, pelo apoio e palavras sábias em momentos cruciais da minha vida.

Ao meu irmão Daniel, pela amizade e incentivos, elevando a qualidade do meu trabalho.

Ao meu pai Flávio (em memória) que mesmo por pouco tempo me ensinou valores que levo até hoje e que refletiram em meu trabalho.

Ao meu namorado, Gregory que ao meu lado me auxiliou com importantes opiniões mas principalmente me tranquilizou durante todo trajeto.

A minha orientadora Ida Pimentel, pela paciência e ajuda como também pela amizade durante todo este processo.

A Prof^a Patrícia Dalzoto que mesmo embarcando neste projeto posteriormente, me auxiliou com importantes conselhos e ensinamentos essenciais para o término do trabalho.

A Angela Bozza, grande amiga e colega de trabalho que me salvou várias vezes e que sem sua ajuda nada disso teria sido possível.

Aos membros do Laboratório de Microbiologia por todo o suporte e ajuda para a realização deste trabalho.

A minha grande amiga Marcy Fonseca, por toda a ajuda nas análises estatísticas, gráficos e principalmente pela amizade e apoio em todo o momento.

Aos meus amigos da Top Bio : Elo, Celso, Paloma, Jeje, Di, Ju, Pri, Fer, San e Dani por toda a amizade e carinho.

As minhas queridas amigas Anna Dora e Bárbara, pelo apoio e afeto que me foi dado mesmo a distância.

Ao CNPq pelo apoio financeiro que auxiliou a realização deste projeto.

Ao IAPAR, Prof^a Maria Brigida dos S. Sholz e Prof. Dalton Reynaud por gentilmente terem cedido as amostras de café.

LISTA DE ABREVIATURAS

Cd - Processo cereja descascado

Nat - Processo natural

N/d - Não determinado

RESUMO

O Brasil vem perdendo espaço no mercado internacional devido à qualidade inferior do café em relação a outros países. A proliferação de microrganismos nos frutos do café altera e prejudica a qualidade do café produzido, diminuindo o preço de mercado. Os objetivos do presente trabalho foram a identificação e quantificação da microbiota fúngica do café produzido em diversos municípios do Estado do Paraná e a relação destes resultados com a qualidade do café, o método de seu processamento e a relação da quantidade de fungos com a altitude das cidades. O isolamento e a identificação foram feitos através da técnica “pour-plate” em meio BDA e microcultivo, respectivamente. Foram isolados 9 gêneros: *Aspergillus*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Mycelia sterilia*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Nigrospora* e *Mucor*. Foram encontradas diferenças significativas entre as cidades analisadas e relação com o processamento do café, sendo que grãos submetidos a via úmida e descascados obtiveram uma taxa baixa de contaminantes. Não foi encontrada correlação qualidade da bebida café com o número de fungos, como também altitude e número de fungos. Pode-se concluir que a quantidade de fungos difere entre as cidades e que o processo via úmida, em que a casca do fruto é removida, diminui significativamente o número de fungos contaminantes.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, qualidade da bebida café, fungos do café, , café verde.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	8
2.1 OBJETIVOS GERAIS	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3 REVISÃO DE LITERATURA	9
3.1 O CAFÉ	10
3.2 CONDIÇÕES AGRÍCOLAS	10
3.3 CULTIVO DO CAFÉ	10
3.3.1 Características do sistema de plantio	11
3.3.2 Pós – colheita	13
3.4 PADRÕES DE BEBIDA	13
3.5 MICROBIOTA ASSOCIADA AOS GRÃOS	14
3.6 FUNGOS	14
3.6.1 Micotoxinas	15
4 MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1 MATERIAL BIOLÓGICO	16
4.2 MEIOS DE CULTURA E SOLUÇÕES	16
4.2.1 Meio Batata Dextrose Ágar	16
4.2.2 Água peptonada	16
4.3 ISOLAMENTO FÚNGICO	17
4.4 IDENTIFICAÇÃO DOS ISOLADOS	17
4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	18
5 RESULTADOS	19
6 DISCUSSÃO	25
7 CONCLUSÕES	28
8 REFERÊNCIAS	29
9 APÊNDICES	35
10 ANEXO	48

1 INTRODUÇÃO

O café é umas das bebidas mais populares do mundo, sendo um dos mais importantes produtos do agronegócio brasileiro. A produção nacional de café deverá ser de 45.544 milhões de sacas de 60 quilos de café beneficiado em 2008, superior à safra passada em 35,00% (11.804 milhões sacas de café beneficiado). A produção do café arábica representa 76,19% da produção do País. O Paraná, estima-se, produzirá 2,36 milhões de sacas de café beneficiado, superior à safra anterior em 45,50% (CONAB, 2008).

Fatores como origem genética, ambiente, manejo pré e pós colheita contribuem diretamente com a qualidade do café, porém estudos iniciados por Krug (1940, 1945 e 1947) e Bitancourt (1957) relacionaram alterações na composição química do café com a presença da microbiota presente no grão, principalmente fungos produtores de toxinas.

Grãos e sementes de café são considerados excelentes ambientes para a proliferação de fungos, principalmente em situações em que os princípios básicos de secagem e armazenamento não são considerados ou não são devidamente aplicados.

Esse projeto visou à identificação fúngica presente nos grãos de café verde de diversas regiões cafeeiras do Estado do Paraná para, posteriormente, correlacionar a má qualidade do café e suas características com os fungos isolados.

Dessa forma, o isolamento dos fungos irá contribuir para um melhor entendimento dos problemas que afetam os grãos e sementes e futuramente proporcionar soluções de controle dessas populações fúngicas, para uma melhoria na qualidade do café brasileiro.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Identificar e quantificar a microbiota fúngica do café verde produzido em diversas cidades do Estado do Paraná.

2.2 Objetivos Específicos

- Quantificar a microbiota fúngica de acordo com o local onde foram coletadas as amostras de café;
- Correlacionar a quantidade de isolados fúngicos com o a qualidade da bebida do café, o processamento que o café foi submetido e a diferença de altitude entre as cidades analisadas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O Café

O gênero *Coffea* apresenta aproximadamente 100 espécies de cafeeiros, mas apenas cinco são cultivados comercialmente e, entre estes, *Coffea arabica* e *C. canephora* são os mais comercializados (CARVALHO *et al.*, 2001). Os cafés arábica e conilon diferem consideravelmente no preço, qualidade e aceitabilidade, produzindo tipos de bebidas diferentes. Com o café arábica são feitas bebidas de melhor qualidade, enquanto que o conilon é utilizado preferencialmente para a fabricação de cafés solúveis, por apresentar elevado teor de sólidos solúveis (MENDES; MENEZES; SILVA, 2001). O café arábica possui concentrações mais altas de carboidratos, lipídeos e compostos orgânicos, a exemplo da trigonelina. Já os cafés conilon, possuem maiores teores de cafeína e compostos fenólicos (ILLY; VIANI, 1995 *apud* MALTA; SANTOS; SILVA, 2002).

As evidências botânicas sugerem que a planta do café origina-se na Etiópia Central. Sua popularidade espalhou-se por Cairo, Constantinopla e para todas as partes do Oriente Médio. Os holandeses foram os primeiros a iniciar o cultivo comercial no Sri Lanka, em 1658, e então em Java, em 1699, e por volta de 1706 eles estavam exportando o primeiro café de Java e estendendo a produção para outras partes da Indonésia. Em 1714, os holandeses bem-sucedidos presentearam Luís XIV da França com um pé de café que cresceu numa estufa em Versailles e quando deu frutos, as sementes foram espalhadas e as mudas foram levadas para o cultivo na ilha de Réunion, na época chamada de Ilha de Bourbon. A variedade de arbustos de café que se desenvolveu daquela árvore em Paris tornou-se conhecida como o café Bourbon e foi a fonte original de grãos hoje conhecidos no Brasil como Santos e no México como Oaxaca (CARVALHO, 2007).

No Brasil, as primeiras sementes e mudas foram plantadas em Belém do Pará, irradiando-se no ano seguinte, tendo atingido a Bahia em 1770. O Brasil não era considerado exportador de café até 1820. Após a independência, o País realmente iniciou a era do café, destacando-se em 1945 como o maior produtor mundial (IBC/GERCA, 1981).

3.2 Condições agrícolas

O cafeeiro arábica é planta tropical de altitude, adaptada a clima úmido com temperaturas amenas. As exigências térmicas da cafeicultura de arábica podem ser definidas pelas temperaturas médias anuais, sendo a faixa apta entre 18° e 23°C e a ideal entre 19° e 22°C (IBC/GERCA, 1981).

O melhor clima para a cultura do café é aquele em que, durante a época da florada dos cafezais, a chuva é intensa, favorecendo a brotação dos frutos e durante a época de colheita a chuva é escassa, impedindo que os fungos fermentem os grãos, o que garante um processo de maturação mais longo. Além disso, temperaturas inferiores a 18°C, para o café arábica, provocam uma baixa diferenciação floral, o que prejudica a produtividade. A identificação das condições climáticas de uma região permite encontrar zonas homogêneas para a cultura do café. Existem 3 classes de aptidão climática: apta, quando as condições térmicas e hídricas são favoráveis à cafeicultura; restrita, quando a região possui restrição térmica ou hídrica; e inapta, quando as condições térmicas e hídricas não são favoráveis à cafeicultura (EVANGELISTA *et al.*, 2002)

Em relação a presença de fungos durante o cultivo do café, os manuais destacam como importante o tipo de solo, precipitação e locais com perigo de geadas (IBC/GERCA, 1981). Existem poucos trabalhos relacionando a altitude onde é plantado o café e a quantidade de fungos. O café *Coffea arabica* é encontrado em altitudes variadas e não existe uma regra sobre a altitude ideal para a produção de café.

3.3 Cultivo do café

3.3.1 Características do sistema de plantio

Existem três sistemas de plantio de café : tradicional, em renque e adensado. O sistema tradicional é predominante no parque cafeeiro nacional (50%). Neste sistema o cafeeiro cobre 50% da superfície do solo devido as lavouras plantadas com espaçamentos largos, de 3 a 4 metros entre as fileiras de 2 a 2,5 metros entre

as covas. Em cada cova são plantadas duas mudas. O sistema tradicional permite livre crescimento das plantas e não exige podas periódicas, possibilita facilidade na colheita porém apresenta baixa produtividade média. (ORMOND, 1999 ; THOMAZIELLO, 2001)

O sistema em renque utiliza somente uma muda por cova e a distância entre as mudas é menor que no sistema tradicional, 0,5 a 1 m. Este sistema gera bons níveis de produtividade e boa qualidade do café colhido (ORMOND, 1999)

Praticado por outros países há muito tempo, o adensamento somente teve impulso no Brasil a partir da década de 1960. Este sistema compreende o emprego de espaçamentos menores, que resultam numa população cafeeiras entre 4 mil a 10 mil plantas por hectare (ANEXO, figura 1a). Os espaçamentos são em geral, de 1 a 3m entre as fileiras e 0,5 a 1m entre as mudas. A alta densidade foliar altera o microclima das plantas. Nos plantios adensados a maior parte das folhas estão sombreadas pelas folhas vizinhas necessitando maior tempo para temperatura se elevar. Além disso, a umidade se mantém mais estável com a diminuição da taxa de evaporação do solo por causa do sombreamento e também devido a maior quantidade de matéria orgânica sobre o solo (VASCONCELOS, 2001).

A colheita pode ocorrer de diversas formas, o ideal é a retirada dos frutos maduros chamados cereja (ANEXO, figura 1b). A colheita do café ocorre normalmente por derriça (derruba o fruto no pano) ou por varreção (derruba o fruto no chão). Porém o processo de varreção é pouco recomendado por produzir um café de qualidade inferior. Outra forma de colheita, menos utilizada é a dedo, onde são colhidos manualmente somente os frutos maduros, ideais para consumo, gerando um café de melhor qualidade (ORMOND, 1999 ; SEBRAE/MG, 2008).

3.3.2 Pós - colheita

O preparo dos frutos de café, após a colheita, pode ser feito de duas maneiras: por via seca, resultando nos “cafés de terreiro” ou “cafés naturais”, ou por via úmida, resultando os “cafés despulpados” ou os “cafés cerejas e descascados” (CD). Na cafeicultura brasileira predomina uma mistura de café verde e cereja (mais maduro) e em mais de 90%, a preparação do café é por “via seca”. Nesse processo, a qualidade do produto vai depender das condições ecológicas da zona de produção

(umidade, temperatura, etc.), especialmente as condições climáticas durante o período de colheita (chuva e umidade do ar) . Os cuidados adotados também são importantes na colheita e durante o preparo dos cafés colhidos, para evitar fermentações indesejáveis, que ocorrem na mucilagem açucarada dos frutos (CIC, 2008).

O preparo “por via seca” não dispensa totalmente o uso de água no processo, pois é indicado usar o lavador/separador, seguindo-se a secagem, o armazenamento e o beneficiamento. O processo via úmida leva à preparação dos cafés despulpados, retirando-se a casca e a mucilagem, fontes de fermentação e que atrasam a secagem. Com isso, torna-se fácil a obtenção de boa bebida, independente da zona de produção. Esse sistema utiliza bastante água, sendo os frutos separados no lavado/separador e os frutos verdes separados no cilindro separador de verdes (SANTOS *et al.*, 2007).

O café despulpado é degomado para a retirada da mucilagem, seguindo-se a secagem, o armazenamento e o beneficiamento. O preparo dos cafés chamados “cerejas descascados” é uma variável no processo “via úmida”, em que os maduros entram num equipamento semelhante ao despulpador, com o cilindro na vertical, que tira a casca e o café em pergaminho não passa pelo processo de degomagem, indo direto para a secagem. Assim, obtém-se um café com características de cor e corpo semelhantes ao de terreiro, porém, com possibilidades de obtenção de melhores padrões de bebida, especialmente nas zonas não propícias aos cafés de bebidas finas (CORADI; BOREM; OLIVEIRA, 2008).

O processo de secagem é considerado um dos mais importantes para manter a qualidade do café intacta durante o armazenamento até seu consumo. Ele é aplicado para reduzir o teor de umidade mantendo a umidade ideal do grão entre 11% e 12%. Dessa forma evitando a proliferação de fungos e bactérias, reações bioquímicas autodegenerativas e diminuição do processo de respiração dos grãos (SILVA, 2005).

O armazenamento é de grande importância para o agronegócio, pois é um dos instrumentos para diminuir as variações de oferta e regular o preço de mercado (REINATO *et al.*, 2007). O café, no Brasil, após o beneficiamento, é armazenado no sistema convencional, em sacos de juta, onde o produto normalmente fica susceptível à perda de qualidade por causa da variação da temperatura e da umidade relativa do ambiente (VIEIRA *et al.*, 2001).

O beneficiamento transforma, pela eliminação das cascas e separação dos grãos, o fruto seco (coco ou pergaminho) em grãos de café, que passa a ter a denominação de café beneficiado ou café verde. A operação de beneficiamento deve ser realizada o mais próximo possível da época de comercialização, para que o produto possa manter suas características originais. Uma unidade de beneficiamento deve sempre possuir, dentre outros equipamentos necessários, um conjunto de peneiras com diferentes tipos de furos, com a finalidade de separar o café das impurezas (graúdas e miúdas), e um catador equipado com sistema magnético que retém materiais metálicos, além de pedras. Esses equipamentos são importantes para garantia da segurança do produto para o consumidor final (EMBRAPA, 2006).

3.4 Padrões de bebida

A “prova da xícara” é uma prova subjetiva em que provadores treinados distinguem diferentes padrões de bebida. Esta é realizada com o café preparado para ser degustado, sendo avaliado quanto ao seu sabor e aroma. Tecnicamente, a classificação oficial do café pela bebida, denominados padrões de bebida, recebem as seguintes denominações: Estritamente Mole, bebida de sabor suavíssimo e adocicado; Mole, bebida de sabor suave, acentuado e adocicado; Apenas Mole, bebida de sabor suave com leve adstringência; Dura, bebida com sabor adstringente e gosto áspero; Riada, bebida com leve sabor de iodofórmio ou ácido fênico; Rio, bebida com sabor forte e desagradável lembrando iodofórmio ou ácido fênico ; Rio Zona, bebida de sabor e odor intoleráveis ao paladar e ao olfato. São denominações técnicas que mostram a variedade de sabor e qualidade e que interferem também na cotação do seu preço no mercado (CARVALHO; CHALFOUN, 1999; CORADI; BOREM; OLIVEIRA, 2008).

3.5 Microbiota associada aos grãos

Os cafés podem ter sua comercialização comprometida pela perda de qualidade sob três aspectos: aparência externa dos grãos de café, possibilidade de produção de micotoxinas, substâncias químicas altamente nocivas à saúde do

homem e produção de compostos prejudiciais (PEREIRA; BOREM; VILELA, 2001; PINO; VEGRO, 2003).

A microbiota associada aos grãos de café é bastante diversificada e está diretamente relacionada a alguns sabores e aromas característicos da bebida. Nas bebidas tipo rio e riada, a infecção por *Aspergillus* é elevada, o que pode estar relacionado com a taxa de umidade superior a 10% encontrada nestes grãos beneficiados. Nos cafés de bebida mole a infecção pelo gênero *Aspergillus* é menor (PIMENTA e CHALFOUN, 2001).

O processo fermentativo pela ação de microrganismos, como bactérias, bolores e leveduras, deteriora as membranas dos grãos (AMORIM; AMORIM, 1977; JONES; JONES, 1984 *apud* FAVARIN *et al.*, 2004), podendo trazer grande prejuízo na produção e qualidade do produto.

3.6 Fungos

Os fungos são microrganismos eucarióticos quimiorganotróficos. Não possuem clorofila e são formados por filamentos que apresentam paredes constituídas por quitina ou celulose (PELCZAR; REID; CHAN, 1996; TORTORA *et al.*, 2005).

A incidência de microrganismos nas fases de pré e pós-colheita tem sido um dos fatores envolvidos na qualidade do café, principalmente na modalidade de colheita e preparo mais adotados no Brasil. Na colheita por meio de derriça obtém-se uma mistura de frutos com diferentes estádios de amadurecimento e no preparo “via seca”, os frutos são despulpados e as enzimas agem sobre os componentes químicos da mucilagem, principalmente sobre os açúcares, fermentando-os e produzindo álcool, transformando este em ácido acético, láctico, butírico e outros ácidos carboxílicos superiores. Ao se iniciar a produção de ácido butírico e propiônico, começa a haver prejuízos na qualidade do café. Quando a fermentação é prolongada, a infecção por microrganismos torna-se acentuada, e começa a produção de compostos responsáveis pelos sabores indesejáveis (PIMENTA & VILELA, 2003).

3.6.1 Micotoxinas

Muitos fungos podem produzir metabólitos tóxicos, quando estão se multiplicando nos alimentos. Estes metabólitos recebem a denominação genérica de “micotoxinas” e correspondem a produtos metabólitos secundários que, quando ingeridos com os alimentos, causam alterações biológicas prejudiciais tanto no homem quanto nos animais (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

A ocratoxina A, principal micotoxina estudada no café (BATISTA; CHALFOUN, 2007), pode apresentar ação nefrotóxica, teratogênica, carcinogênica (JOOSTEN *et al.*, 2001; LEONI, *et al.*, 2001) e pode estar relacionada com a nefropatia endêmica dos Balcãs, doença degenerativa dos rins que afeta exclusivamente a população adulta rural (PRADO *et al.*, 2000).

Existem três principais espécies produtoras de ocratoxina A encontradas no café: *Aspergillus ochraceus*, *A. niger* e *A. carbonarius*. A toxina pode ser produzida em qualquer momento do processamento do café, tanto na colheita, no transporte ou armazenamento dos grãos (SUAREZ- QUIROZ *et al.*, 2004).

Vários países estabeleceram limites máximos de ocratoxina para diversos cereais e outros produtos, entretanto, poucos possuem uma legislação para grãos de café. Em alguns países europeus o nível máximo para o café torrado é de 5µg/kg e 10µg/kg em cafés instantâneos (ALMEIDA *et al.*, 2007). O Brasil não possui qualquer regulamentação sobre os níveis de ocratoxina nos alimentos (PRADO *et al.*, 2000).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material biológico

Foram coletadas e analisadas 55 amostras de grãos de café de 25 cidades produtoras de *Coffea arabica* do Estado do Paraná. Os grãos analisados foram cedidos pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) e pertencem à safra do 2005/2006. As amostras foram beneficiadas, moídas e armazenadas em frascos sob refrigeração -10°C para análises.

4.2 Meios de cultura e Soluções

4.2.1. Meio Batata Dextrose Ágar (BDA)

Batata	200g
Ágar.	15 g
Dextrose	20 g
Água destilada	1000 mL

pH= 5,5- 6,5

A batata foi cozida em água destilada por 15 minutos, depois foi adicionado o ágar e a dextrose e deixado levantar fervura por um minuto. A solução pronta foi esterilizada em autoclave a 121°C por 20 minutos.

4.2.2 Água Peptonada a 1%

Cloreto de Sódio	5g
Peptona	15g
Água Destilada	20g

Todos os compostos foram misturados, sendo esterilizados em autoclave a 121°C por 20 minutos.

4.3 Isolamento fúngico

Para a determinação da população fúngica utilizou-se a técnica “Pour- plate” (APHA, 2005). Em um frasco Erlenmeyer, contendo 90 mL de água peptonada, colocou-se 10 g de café moído, o qual permaneceu no agitador por 30 minutos a 36°C. A inoculação foi feita em fluxo laminar, utilizando 3 diluições (10^1 , 10^2 e 10^3), com 4 repetições para cada diluição. Foi colocado 1 mL da solução na placa de Petri e posteriormente verteu-se o meio BDA líquido acrescentando tetraciclina (0,16 µg/ mL) na placa. Para as demais diluições utilizou-se tubos de ensaio contendo 9mL de água peptonada. As placas foram incubadas em estufa BOD a aproximadamente 28°C por 4 dias.

Após o período de incubação realizou-se a contagem das unidades formadoras de colônia. O isolamento dos fungos foi realizado repicando as colônias em tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, incubados em estufa a 28°C por 4 dias. Os isolados foram, então, agrupados de acordo com sua morfologia colonial.

4.4 Identificação dos isolados

Para a identificação dos morfotipos foi utilizada a técnica do microcultivo (KERN; BLEVINS, 1999), que consiste na utilização de placas de Petri esterilizadas, contendo em seu interior uma lâmina e um pedaço de algodão. Um cubo de 1 cm³ de meio de cultura BDA deve ser cortado e colocado sobre a lâmina contida na placa. O algodão deve ser umedecido em água destilada esterilizada para manter o meio umido. O fungo isolado é repicado nos lados do cubo e este coberto por uma lamínula esterilizada com álcool. A placa é incubada por 7 a 14 dias, a aproximadamente 28°C. Após o tempo determinado a lamínula é retirada e colocado em uma lâmina limpa contendo Lactofenol de Amann, sendo as bordas vedadas com parafina. Essas lâminas foram analisadas em microscópio óptico. Para a identificação dos isolados foram utilizados critérios macro e micromorfológicos. A identificação foi realizada através da utilização de literatura especializada (BARNETT; HUNTER, 1987; KERN, 1988; MENEZES; OLIVEIRA, 1993).

4.5 Análises estatísticas

Os dados relativos ao número de colônias isoladas foram transformados para $\log (x+2)$ com o intuito de estabelecer a normalidade dos dados. Realizou-se a Análise de Variância (ANOVA) segundo o delineamento inteiramente ao acaso (DIC).

Quando encontrada significância para o teste F, complementou-se a ANOVA com o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software *ASS/STAT 7.5* 2008 (SILVA , 1996)

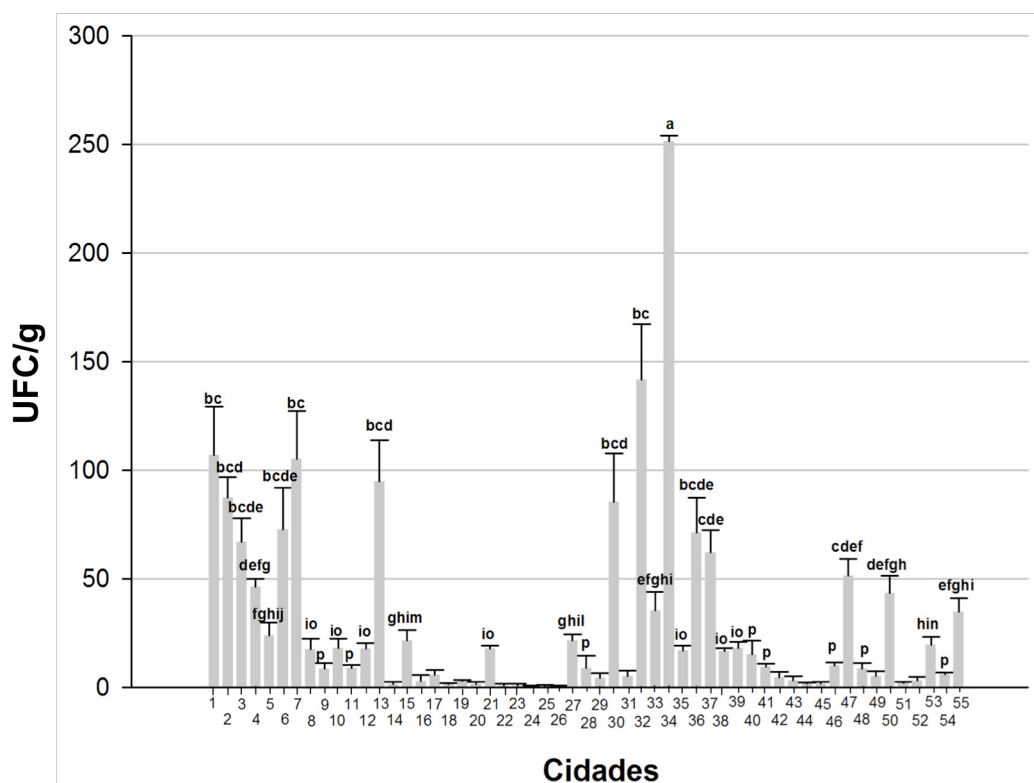
5 RESULTADOS

Foram isolados 6323 fungos das 55 amostras coletadas em cafeeiros de diversas cidades do Estado do Paraná (Tabela 1 e Gráfico 1).

Em relação a avaliação quantitativa, por meio das análises observou-se diferença significativa no número absoluto de fungos encontrados nas 55 amostras de café moído. A amostra 34, coletada na cidade de Uraí apresentou a maior concentração de fungos. São Jerônimo da Serra apresentou resultados semelhantes. As amostras de Cambé e Uraí (1 e 7, respectivamente), são consideradas estatisticamente iguais, com alta concentração fúngica. As amostras de Arapongas, São Luiz (Londrina), Londrina, São Luiz (Londrina), Bela Vista do Paraíso (8, 10, 12, 21, 35, 38 e 39), também são estatisticamente iguais, com baixa frequência de fungos no café. Cornélio Procópio, São Jerônimo da Serra, Maringá, Lerroville (Londrina), Congonhinhas, Grandes Rios e Jacarezinho (amostras 9, 11, 28, 40, 41, 46, 48 e 54) obtiveram resultados estatísticos iguais e apresentaram a menor taxa de fungos das amostras analisadas.

Os isolados foram identificados como pertencentes a 9 gêneros de fungos: *Aspergillus*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Nigrospora*, *Mucor*, *Mycelia sterilia*, *Penicillium*, *Trichoderma* e *Rhizopus* (Gráfico 2).

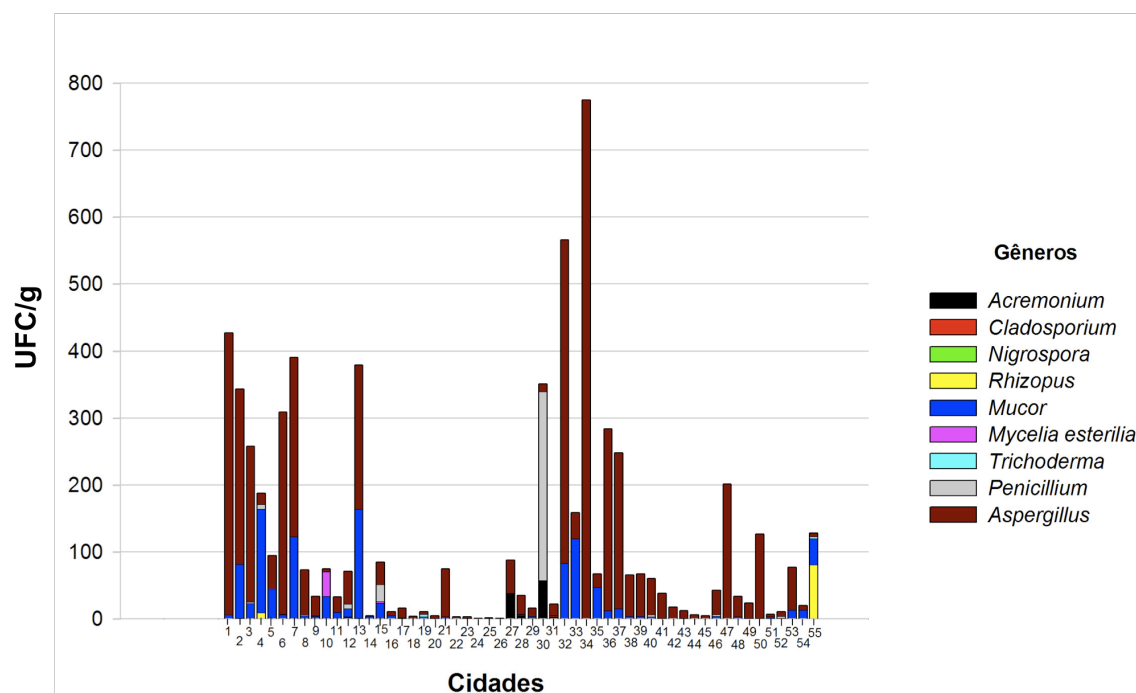
Gráfico 1. Número de fungos isolados de grãos de café beneficiado (*Coffea arabica*) de diversas cidades do Estado do Paraná (Safrá 2005/2006).



1. Cambé	14. Cambira	27. Congonhinhas	40. Bela Vista do Paraíso	53. Cambira
2. Uraí	15. Londrina	28. Maringá	41. Lerroville(Londrina)	54. Jacarezinho
3. Lerroville(Londrina)	16. Cambira	29. Cambé	42. Congonhinhas	55. Uraí
4. Cornélio Proc	17. Londrina	30. Apucarana	43. Congonhinhas	
5. Assaí	18. Londrina	31. Uraí	44. Congonhinhas	
6. Tamatana	19. Morretes	32. São Jerônimo Serra	45. Congonhinhas	
7. Uraí	20. Arapongas	33. Tamarana	46. Grandes Rios	
8. Arapongas	21. Londrina	34. Uraí	47. Grandes Rios	
9. Cornélio Proc	22. Londrina	35. São Luiz (Londrina)	48. Grandes Rios	
10. São Luiz(Londrina)	23. Jesuítas	36. São Luiz (Londrina)	49. Bela Vista do Paraíso	
11. São Jerônimo Serra	24. Jesuítas	37. Uraí	50. Londrina	
12. Uraí	25. Jesuítas	38. Bela Vista do Paraíso	51. Jacarezinho	
13. Uraí	26. Jesuítas	39. Bela Vista do Paraíso	52. Santo Antonio da Platina	

Nota: O valor de cada amostra é a média das 4 repetições. As letras acima do erro padrão estão de acordo com as análises feitas: ANOVA e teste Tukey. As cidades que não possuem letras associadas não apresentaram uma frequência de isolados suficiente para análise. As amostras coletadas na mesma cidade foram retiradas de diferentes cafeeiros.

Gráfico 2. Proporção de acordo com o gênero, de fungos isolados do café (*Coffea arabica*) de diversas cidades do Estado do Paraná (Safrá 2005/2006).



1. Cambé	14. Cambira	27. Congonhinhas	40. Bela Vista do Paraíso	53. Cambira
2. Uraí	15. Londrina	28. Maringá	41. Lerroville(Londrina)	54. Jacarezinho
3. Lerroville(Londrina)	16. Cambira	29. Cambé	42. Congonhinhas	55. Uraí
4. Cornélio Procópio	17. Londrina	30. Apucarana	43. Congonhinhas	
5. Assaí	18. Londrina	31. Uraí	44. Congonhinhas	
6. Tamatana	19. Morretes	32. São Jerônimo Serra	45. Congonhinhas	
7. Uraí	20. Arapongas	33. Tamarana	46. Grandes Rios	
8. Arapongas	21. Londrina	34. Uraí	47. Grandes Rios	
9. Cornélio Procópio	22. Londrina	35. São Luiz (Londrina)	48. Grandes Rios	
10. São Luiz(Londrina)	23. Jesuítas	36. São Luiz (Londrina)	49. Bela Vista do Paraíso	
11. São Jerônimo da Serra	24. Jesuítas	37. Uraí	50. Londrina	
12. Uraí	25. Jesuítas	38. Bela Vista do Paraíso	51. Jacarezinho	
13. Uraí	26. Jesuítas	39. Bela Vista do Paraíso	52. Santo Antonio da Platina	

Nota: A numeração das cidades é igual a do gráfico 1. No eixo y, a “quantidade de fungos” é absoluta, com a soma das repetições.

Dentre os 9 gêneros identificados, *Aspergillus* apresentou maior frequência com 76% (4786 UFC/g). O gênero *Mucor* com 17% foi o segundo mais numeroso (1072 UFC/g), seguido de *Penicillium*, *Rhizopus* e *Acremonium*. Os gêneros *Cladosporium*, *Nigrospora* e *Trichoderma* (todos menos de 1%) foram encontrados em baixa quantidade. Na maioria das amostras houve um predomínio do gênero *Aspergillus*, entretanto na amostra 55, coletada na cidade de Uraí a presença de

Aspergillus foi pequena e o gênero *Rhizopus* apresentou uma frequência grande. Este gênero foi encontrado também na amostra 4, porém em concentração muito baixa.

Na cidade de Apucarana (amostra 30), similar à Uraí, a frequência do gênero *Aspergillus* foi baixa, porém os gêneros *Penicillium* e *Acremonium* foram encontrados em quantidade significativa. O café de São Luiz (Londrina) apresentou vários isolados que não apresentaram estruturas reprodutivas, sendo classificados como *Mycelia sterilia*.

A tabela 1 apresenta as relações entre a quantidade de fungos das amostras com: a altitude, a qualidade da bebida café e o processo pelo qual os grãos foram submetidos.

Em relação à altitude pode-se observar que as cidades de maior altitude são Tamarana, com 1046 metros de altitude e São Jerônimo da Serra, com 976 metros. Nas amostras 6 e 33, ambas coletadas em Tamarana, foi encontrado uma alta variação da frequência fúngica, 309 e 159 UFC/g respectivamente. Em São Jerônimo da Serra foram isolados na amostra 11, 33 fungos e na amostra 33, 566 fungos. A cidade de Uraí também apresentou uma alta variação nos dados, com 7 amostras provenientes da mesma cidade, a quantidade de fungos variou entre 22 na amostra 31 e 775 na amostra 34.

A cidade de Jesuítas, a 489 metros acima do nível do mar, apresentou em quatro amostras, 23, 24, 25 e 26, uma baixa concentração de fungos como também quatro amostras da cidade de Congonhinhas (amostras 42, 43, 44 e 45) que obtiveram resultados similares.

Analisando os dados através da qualidade do café também é possível observar uma variação entre as amostras de mesma qualidade de bebida e a população fúngica encontrada. Dentre as 55 amostras, 9 possuem café de qualidade “rio”, seis são de qualidade “riada” e o restante é considerado como bebida “dura”. Essa variação é visível nas amostras coletadas na cidade de Uraí, em que todas as amostras oriundas desta cidade são consideradas produtoras de café de qualidade “dura”, entretanto, a quantidade de fungos encontrados varia grandemente entre as amostras como citado anteriormente. As bebidas vindas das amostras 35 e 36, de São Luiz, foram determinadas como bebida de qualidade “rio”, sendo que na amostra 35 foram isolados 67 fungos e a amostra 36 foram isolados 284 fungos.

Com relação ao item processamento do café, as amostras apresentam certa

constância nos dados. Dentre as 55 amostras, em 35 os cafés passaram pelo processo natural (Nat), 15 amostras não foram determinadas (N/a) e 5 passaram pelo processo de descascamento (Cd). As amostras proveniente do processo natural variam em relação à quantidade de fungos encontrados. O café da amostra 54, de Jacarezinho, passou pelo processo natural e apresentou ao todo 20 fungos. Diferentemente da amostra 53 de Londrina, que também passou pelo processo natural, mas de onde foram isolados 127 fungos. Comparando duas amostras (46 e 47) vindas da mesma cidade, Grandes Rios, a situação é a mesma: ambas passaram pelo processo natural, porém apresentaram grande variação da quantidade de fungos, 43 e 201 fungos, respectivamente.

Entretanto, observando as amostras que passaram pelo processo de descascamento, em que a casca é retirada e despolpada posteriormente, todas as amostras processadas dessa forma, apresentaram uma baixa concentração de fungos, são elas as amostras: 19, 20, 21, 22 e 42.

Tabela 1. Relação do número de fungos isolados do café (*Coffea arabica*) do Estado do Paraná (Safrá 2005/2006) com a altitude das cidades, a qualidade da bebida e pelo processamento do café.

Numeração	Cidade	Altitude (m)	Qualidade	Processo	Nº de Fungos
1	Cambé	650	riada	Nat	427
2	Uraí	435	dura	Nat	343
3	Lerrovile (Londrina)	608	rio	Nat	258
4	Cornélio Procópio	658	riada	Nat	188
5	Assaí	605	dura	Nat	95
6	Tamarana	1046	dura	Nat	309
7	Uraí	435	dura	Nat	390
8	Arapongas	729	rio	Nat	73
9	Cornélio Procópio	658	rio	Nat	34
10	São Luiz -Londrina	608	dura	Nat	75
11	São Jerônimo da Serra	976	dura	Nat	33
12	Uraí	435	dura	Nat	71
13	Uraí	435	dura	Nat	379
14	Cambira	805	dura	Nat	5
15	Londrina	608	dura	Nat	85
16	Cambira	805	dura	Nat	11
17	Londrina	608	rio	Nat	16
18	Londrina	608	rio	Nat	4
19	Morretes	8,48	rio	Cd	11
20	Arapongas	729	dura	Cd	5
21	Londrina	608	dura	Cd	75
22	Londrina	608	dura	Cd	3
23	Jeuítas	489	dura	Nat	3
24	Jeuítas	489	dura	Nat	1
25	Jeuítas	489	dura	Nat	2
26	Jeuítas	489	dura	Nat	1
27	Congonhinhas	839	dura	N/d	88
28	Maringá	554,90	dura	N/d	35
29	Cambé	650	dura	N/d	16
30	Apucarana	983	dura	N/d	351
31	Uraí	435	dura	N/d	22
32	São Jerônimo da Serra	976	dura	N/d	566
33	Tamarana	1046	dura	N/d	159
34	Uraí	435	dura	N/d	775
35	São Luiz -Londrina	608	rio	N/d	67
36	São Luiz -Londrina	608	rio	N/d	284
37	Uraí	435	rio	N/d	248
38	Bela Vista do Paraíso	590	riada	N/d	66
39	Bela Vista do Paraíso	590	dura	N/d	67
40	Bela Vista do Paraíso	590	dura	N/d	60
41	Lerrovile -Londrina	608	dura	N/d	38
42	Congonhinhas	839	dura	Cd	18
43	Congonhinhas	839	dura	Nat	12
44	Congonhinhas	839	riada	Nat	6
45	Congonhinhas	839	riada	Nat	5
46	Grandes Rios	610	dura	Nat	43
47	Grandes Rios	610	dura	Nat	201
48	Grandes Rios	610	riada	Nat	34
49	Bela Vista do Paraíso	590	dura	Nat	24
50	Londrina	608	dura	Nat	127
51	Jacarezinho	806	dura	Nat	7
52	Santo Antônio da Platina	505	dura	Nat	11
53	Cambira	805	dura	Nat	77
54	Jacarezinho	806	dura	Nat	20
55	Uraí	435	dura	Nat	128

Legenda: A altitude se refere a cidade que foi feita a coleta da amostra. Na coluna da qualidade da bebida do café, de forma decrescente seria: dura, riada e rio, sendo dura a bebida de melhor qualidade entre as três. O processo pelo qual o café passou pode ser natural (Nat), pela via seca ou descascado (Cd) pela via úmida. As amostras descritas com n/a significam que o processo não foi determinado. A última coluna é a soma absoluta dos fungos, considerando as 4 repetições da metodologia no somatório.

6 DISCUSSÃO

O gênero *Aspergillus* foi encontrado em maior frequência nas amostras analisadas (Gráfico 2), enquanto houve baixa quantidade do gênero *Cladosporium*. Silva et al. (2008) também observaram *Aspergillus* sp como o mais abundante em *C. arabica*, seguido por *Penicillium*, *Fusarium* e *Cladosporium*. No presente trabalho, não foi observado *Fusarium* sp, diferindo dos dados de Alves e Castro (1998), que, isolando fungos associados ao café na fase de pré e pós colheita, obtiveram uma alta quantidade de fungos do gênero *Fusarium* e *Cladosporium* nas duas fases. Krug (1945) não observou a presença de *Cladosporium* no café na fase cereja.

Martins e Silveira (2001) comparando a microbiota de cafés não beneficiados e beneficiados, mostraram que o processo de beneficiamento em que se retira a casca, diminui significativamente a quantidade de fungos do gênero *Fusarium* e *Cladosporium*, pois estes são contaminantes superficiais. Este fato corrobora os resultados obtidos no presente estudo, uma vez que as amostras passaram pelo processo de beneficiamento.

A presença de fungos do gênero *Aspergillus* em café é comumente associada com a diminuição da qualidade da bebida, principalmente por sua participação em processos fermentativos, porém outros fatores podem estar envolvidos nesse processo, como umidade, temperatura, altitude, tipo de solo, pluviosidade e estágio do fruto quando a colheita é realizada (KRUG, 1947). Pimenta e Vilela (2003) também consideram que a qualidade da bebida café é influenciada por outros fatores além da quantidade de fungos. Algumas espécies do gênero *Aspergillus* são produtoras de micotoxinas (MAGNANI *et al.*, 2005) e podem afetar a qualidade do café. Porém os dados obtidos neste trabalho não permitem relacionar a presença de *Aspergillus* sp com a piora na qualidade da bebida, uma vez que, apesar da alta incidência deste gênero nas amostras, a qualidade do café na maioria das mesmas foi dura. Bozza (2007), entretanto, observou altas frequências de *Aspergillus* sp relacionadas diretamente com a piora da qualidade da bebida em amostras de café provenientes de cidades do Paraná.

Em relação à altitude (Tabela 1), embora as cidades tenham diferenças significativas em relação ao número absoluto de fungos isolados, esta incidência não parece estar relacionada com a altitude das cidades.

Nas amostras 6 e 33, ambas coletadas em Tamarana foi encontrada uma alta

variação da frequência fúngica, 309 e 159 UFC/g, respectivamente. Em São Jerônimo da Serra foram isolados na amostra 11, 33 fungos e na amostra 33, 566 fungos. Essa alta variação sugere que a altitude pode não estar relacionada com a quantidade de fungos no café. Perez (2008) obteve resultados similares e não observou correlação entre a presença de fungos e a altitude. Ruotsalainen *et al.* (2007) trabalhando com micorrizas, também não encontrou significância estatística entre altitude e população fúngica. Entretanto, Lugo *et al.* (2007), estudando também micorrizas, verificou que a altitude afetou na diversidade dos fungos e que o aumento da altitude é acompanhado da diminuição de temperatura, afetando o crescimento ótimo dos fungos.

O método de processamento das amostras, por sua vez, pode ser relacionado com a quantidade de isolados fúngicos. Amostras que sofreram o processo natural tiveram maior frequência de isolados, mesmo que essa quantidade tenha sido bastante variável nas diferentes cidades, conforme já discutido.

Amostras que passaram pelo descascamento, por outro lado, são as que apresentam as menores contagens de fungos, provavelmente devido à remoção da casca e, em consequência, dos fungos existentes sobre a mesma. Bucheli e Taniwaki (2002) descrevem que grãos de café descascados tratados por via úmida, aparentemente são menos suscetíveis à infecção por *Aspergillus* e por contaminação com micotoxinas.

Leveduras e fungos filamentosos que participam da fermentação de frutos do café originam-se da superfície do fruto (THOMPSON *et al.*, 1997), o que reafirma o número reduzido de fungos encontrados nos cafés descascados pela via úmida.

O controle da umidade e temperatura são favoráveis à manutenção da qualidade das sementes de *C. arabica*, sendo que altos níveis de umidade favorecem o aparecimento de contaminantes como *Penicillium* e *Aspergillus* (GENTIL *et al.*, 2001; PARDO *et al.*, 2005).

Segundo Paula *et al.* (2000), a expressão final da qualidade da bebida do café é o resultado de um conjunto complexo de interação de fatores bióticos e abióticos, entre os quais se destaca a microbiota presente nos frutos durante os vários estádios de maturação do grão do café. As condições climáticas onde a umidade e temperatura são elevadas, levam a uma aceleração do fenômeno de senescência dos frutos e do processo de estabelecimento e crescimento desses microrganismos.

Estudos posteriores deverão ser conduzidos no intuito de elucidar a relação do sabor da bebida café com a frequência de fungos do gênero *Aspergillus*. Dados geográficos detalhados e informações complementares sobre as condições climáticas das cidades onde as coletas foram realizadas poderão ser úteis para a análise destes experimentos.

7 CONCLUSÕES

- As amostras analisadas são estatisticamente diferentes entre si.
- Não houve correlação entre a altitude das cidades e a quantidade de fungos isolados, como também relação da população de isolados e a qualidade da bebida café.
- Houve diferença significativa entre o processamento do café por via úmida, descascado e a quantidade de fungos. As amostras com frutos do café submetidos a via úmida apresentaram baixo nível de isolados.

REFERÊNCIAS

- APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for examination of water and wastewater**. 21 ed. Washington, 2005.
- ALMEIDA, P. A., et al. Ocratoxina A em café solúvel brasileiro. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 2, São Paulo, 2007.
- ALVES, E.; CASTRO, H. A. Fungos associados ao café (*Coffea arabica* L.) nas fases de pré e pós- colheita em lavouras da região de Lavras. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 24, p. 4- 7, 1998.
- BARNETT, P. S, HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3ed., Minneapolis: Burgess Publications, 1987.
- BATISTA, L. R., CHALFOUN, S. M. Incidência de ocratoxina A em diferentes frações do café (*Coffea arabica* L.): bóia, mistura e varrição após secagem em terreiros de terra, asfalto e cimento . **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.3, 2007.
- BITANCOURT, A. A. As fermentações e podridões da cereja café. **Boletim de Superintendência dos Servidores do Café**, v.32, n.359, p. 7-14, 1957.
- BOZZA, A. **Isolamento de fungos associados a grãos de café cv. Iapar 59 de origem de solo e árvore em diferentes tempo de colheita**. Curitiba – UFPR (Monografia – Bacharel em Ciências Biológicas) 2007.
- BUCHELI, P.; TANIWAKI, M. H. Research on the origin, and on the impact of post-harvest handling and manufacturing on the presence of ochratoxin A in coffee. **Food Additives and Contaminants**, v.19, n.7,p. 655-665, Londres, 2002.
- CARVALHO, A. Histórico do desenvolvimento do cultivo do café no Brasil. **Instituto Agrônomo**, Campinas, 2007. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/BTonline/doc34.pdf>. Acessado em: 02/11/08
- CARVALHO, V. D. de; CHALFOUN, S. M. **Cafeicultura, tecnologias de produção, gerenciamento e comercialização: Colheita, preparo e armazenamento**. 1 ed, Lavras: D4 videographics, 1999. CR-ROM.
- CARVALHO, L. M.; SILVA, E. A. M.; AZEVEDO, A. A.; MOSQUIM, P. R.; CECILIO, P. R. Aspectos morfofisiológicos dos cultivares de cafeeiro catuaí-Vermelho e Conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.3, p. 411-416, 2001.

Centro de inteligência do café (CIC): Disponível em: <http://www.cicbr.org.br/cafe-processamento.php>. Acessado em: 14/08/08.

CONAB: **Safras**. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento_2008.pdf
Acessado em: 15/08/08.

CORADI, P. C.; BOREM, F. M.; OLIVEIRA, J. A. Qualidade do café natural e despulpado após diferentes tipos de secagem e armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v. 12, n.2, p. 181- 188, 2008.

EVANGELISTA, A. W. P.; CARVALHO, L. G.; SEDIYAMA, G. C. Zoneamento climático associado ao potencial produtivo da cultura do café no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v.6, n. 3, p. 445- 452, 2002.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- (EMBRAPA). **Cultivo do café orgânico**. Jan/2006. Disponível em:

<http://www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/sistemasdeproducao/cafe/cafe.htm>
Acessado: 21/11/08.

FAVARIN, J. L.; VILLELA, A. L. G.; MORAES, M. H. D.; CHAMMA, H. M. C. P.; COSTA, J. D.; DOURADO-NETO, D. Qualidade da bebida de café de frutos cereja submetidos a diferentes manejos pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária**. Brasília, v. 39, n. 2, p. 187-192, 2004.

FRANCO, B. D. G., LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 182 p, 2005.

GENTIL, D. F. O.; SILVA, W. R.; MIRANDA, D. M. Grau de umidade e temperatura na conservação de sementes de café. **Tecnologia de sementes**. Campinas, v. 60, nº 1, 2001.

IBC/GERCA – **Cultura de café no Brasil**: Manual de recomendações. 4 ed. Rio de Janeiro, 1981.

JOOSTEN, H. M. L. J., GOETZ, J., PITTET, A., SCHELLENBERG, M., BUCHELI, P. Production of ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* on coffee cherries. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 65, n. 1-2, p. 39- 44, 2001.

KERN, M. E. **Medical mycology**: A self- instructional text. 3ed. Philadelphia: F. A. Davis Company, 1988.

KERN, M. E; BLEVINS, K. S. **Micologia Médica – Texto e Atlas**. 2ed. São Paulo: Editorial Premier, 1999.

KRUG, H. P. A origem dos cafés duros. **Boletim da Agricultura**, São Paulo, v. 48, p. 397- 406, 1947.

KRUG, H. P. Cafés duros II – Um estudo sobre a qualidade dos cafés de varrição. **Revista do Instituto do café**, do Estado de São Paulo, São Paulo, v. 15, p. 1393-1396, 1940.

KRUG, H. P. Concepção moderna sobre a origem dos cafés duros. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 20, p. 416- 426, 1945.

LEONI, L. A. B., FURLANI, R. P. Z., VALENTE SOARES, L. M., OLIVEIRA, P. L. C. Ochratoxin A in brazilian green coffee. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, 2001.

LUGO, M. A.; FERRERO, M.; MENOYO, E.; ESTEVEZ, M. C.; SINERIZ, F.; ANTON, A. Diversity along an altitudinal gradient in south american. **Microbiology Ecology**, Amsterdam, 2007.

MAGNANI, M.; FERNANDES, T.; PRETE, C. E. C.; HOMECHIM, M.; ONO, E. Y. S.; VILAS-BOAS, L. A.; SARTORI, D.; FURLANETO, M. C.; FUNGARO, M. H. P. Identificação molecular de *Aspergillus* spp. isolados de grãos de café. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v.62, nº 1, 2005.

MALTA, M. R.; SANTOS, M. L.; SILVA, F. A . M. Qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) **Acta Scientiarum**, Maringá, v.24, n.5, p. 1385- 1390, 2002.

MARTINS, A. N., SILVEIRA, A. P. da, et al. **Microbiota no café armazenado e recém- beneficiado**. In : II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil – Setembro de 2001. Disponível em : <http://www.coffeebreak.com.br/o cafezal.asp?SE=8&ID=311> Acessado em : 26/10/08.

MENDES, L.C.; MENEZES, H.C.; DA SILVA, M.A. Optimization of the roasting of robusta coffee (*C. canephora* conilon) using acceptability tests and RSM. **Food Quality and Preference**, New York, v.12, n. 2, p. 153-162, 2001.

MENEZES, M., OLIVEIRA, S. M. A. **Fungos fitopatogênicos**. Pernambuco: UFRPE, 1993.

ORMOND, J. G. P., PAULA S. R. L., FILHO, P. F. **Café: (re) conquistas dos mercados**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 10, p. 3- 56, 1999.

PARDO, E. MARIN, S.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V. Effect of water activity and temperature on mycelial growth and ochratoxin a production by isolates of *Aspergillus ochraceus* on irradiated green coffee beans. **Jornal of food protection**. Lleida(Spain), v. 68, p. 133- 138, 2005.

PAULA, E. M.; SAKIYAMA, C. C. H.; PITTA FILHO, O. P. L.; BORGES, A. C.; SILVA, D. O. Comparação da microbiota da superfície de frutos de café (*Coffea arabica* L.) colhidos em duas localidades. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 1. **RESUMOS**...Brasília, D.F., v. 2, p. 201-204, 2000.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. São Paulo. McGraw-Hill, 1996.

PEREIRA, R. G.; BOREM, F. M.; VILELA, T. Microbiologia dos cafés do alto do Rio Grande. In: **II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil** – Setembro de 2001.

PEREZ, J.; INFANTE, F.; VEGA, F. E.; HOLGUIN, F.; MACIAS, J.; VALLE, J.; NIETO, G.; PETERSON, S. W.; KURTZMAN, C. P.; O'DONELL, K. Mycobiota associated with the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Mexico. **Food Microbiology**, Londres. 2003.

PIMENTA, C. J.; CHALFOUN, S. M. Composição microbiana associada ao café coco e beneficiado colhido em diferentes estádios de maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n.3, p. 677- 682, mai./jun., 2001.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Composição microbiana e ocratoxina A no café (*Coffea arabica*) submetido a diferentes tempos de espera antes da secagem. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.6, nov./dez., 2003.

PINO, F. A.; VEGRO, C. L. R. Qualidade do café expresso em condições de campo. **Food Technology**, Chicago. V. 6, n. 2, p. 345- 350, 2003.

PRADO, G., et al. Incidência de Ocratoxina A em café torrado e moído e em café solúvel consumido na cidade de Belo Horizonte, MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 192- 196, 2000.

REINATO, C. H. R., BORÉM, F. M., SILVA, P. J. da, OLIVEIRA, E. C. Influência da secagem em diferentes tipos de terreiro, sobre a qualidade do café ao longo do armazenamento. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.12, n. 2, p. 181- 188, 2008.

RUOTSALAINEN, L.; VARE, H.; OKSANEN, J.; TUOMI, J. Root fungus colonization along an altitudinal gradient in north norway. **Arctic, Antarctic, and Alpine Research**. Colorado (USA), v. 36, nº 2, 2007.

SANTOS, M. H.; BATISTA, B. L.; DUARTE, S. M. S.; ABREU, M. P.; GOUVEA, C. M. C. P. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, São Paulo, V. 30, n. 3, 2007.

SEBRAE/MG. **Saiba como montar cultivo de café**. Minas Gerais, 2008.

SILVA, C. F.; BATISTA, L. R.; ABREU, L. M.; DIAS, E. S.; SCHWAN, R. F. Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam July, 2008.

SILVA, C. F.; SCHAWAN, R.; DIAS, E. S.; WHEALS, A. E. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.60, p. 251- 260, 2000.

SILVA, F. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: International Conference on Computers in Agriculture. **American Society of Agricultural Engineers** v.6, p. 294-298, 1996.

SILVA, L. C. da. **Boletim : Cultivo de grãos**, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), 2005.

SUAREZ-QUIROZ, M. L., et al. Effect of chemical and environmental factors on *Aspergillus ochraceus* growth and toxigenesis in green coffee. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, p. 629 – 634, 2004.

THOMAZIELLO, A. R. O cultivo de cafeeiro em sistema adensado. **O Agrônomo**, Campinas, v. 52, n. 2, 2001.

THOMPSON, S. S.; MILLER, K. B.; LOPEZ, A. S. Cocoa and coffee. In: DOYLE, M. P.; BEACHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. **Food microbiology**: fundamentals and frontiers. Washington, ASN Press, p. 659, 1997.

TORTORA et al. **Microbiologia**. Artmed, São Paulo, 2005.

VASCONCELOS, R.C.; SOUZA, C.A.S.; DIAS, F. P.; GUIMARÃES, R.J. Cultivo do cafeeiro em condições de adensamento. **Boletim de Extensão**, Lavras, UFLA, PROEX, 43 p. 2001.

VIEIRA, G., SILVA, J. N. da, VILELA, E. R., SOUZA e SILVA, J. Avaliação da qualidade de café beneficiado armazenado em silo sem e com aeração e em sacos de junta. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campinas, v. 3, n. 1, p-75-90, 2001.

APÊNDICE

1. MACRO E MICROMORFOLOGIA DO ISOLADO DO GÊNERO <i>Absidia</i>	36
2. MACRO E MICROMORFOLOGIA DOS ISOLADO DO GÊNERO <i>Aspergillus</i>	37
3. MACRO E MICROMORFOLOGIA DOS ISOLADOS DO GÊNERO <i>Acremonium</i>	38
4. MACRO E MICROMORFOLOGIA DO ISOLADO DO GÊNERO <i>Cladosporium</i>	39
5. MACRO E MICROMORFOLOGIA DO ISOLADO DO GÊNERO <i>Mucor</i>	40
6. MACRO E MICROMORFOLOGIA DO ISOLADO DO GÊNERO <i>Nigrospora</i>	41
7. MACRO E MICROMORFOLOGIA DOS ISOLADOS DO GÊNERO <i>Penicillium</i>	42
8. MACRO E MICROMORFOLOGIA DO ISOLADO DO GÊNERO <i>Rhizopus</i>	43
9. MACRO E MICROMORFOLOGIA DOS ISOLADOS DO GÊNERO <i>Trichoderma</i>	44
10. ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS AMOSTRAS DO CAFÉ	45

APÊNDICE 1

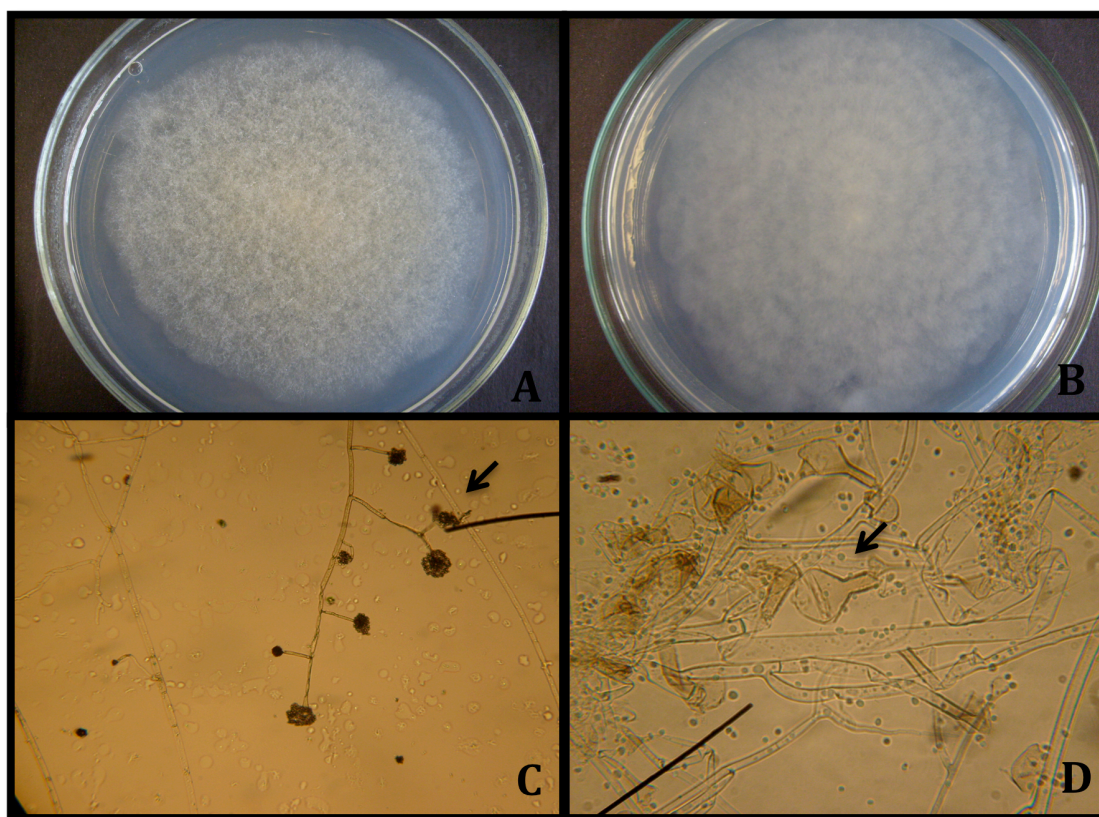
MACRO E MICROMORFOLOGIA DE ISOLADO DO GÊNERO *Absidia* DE AMOSTRAS DE CAFÉ DO ESTADO DO PARANÁ (SAFRA 2005/2006)

FIGURA 1: Macro e micromorfologia de isolado de *Absidia* sp. de amostras de café do Estado do Paraná (safra 2005/2006), em meio BDA, com 7 dias de crescimento a 28°C.

Legenda: A, B, C, D: isolado AB1 – A) morfologia colonial do isolado AB1, mostrando o verso da colônia, B) reverso da colônia, C e D) esporângios com aumento de 400X.

APÊNDICE 2

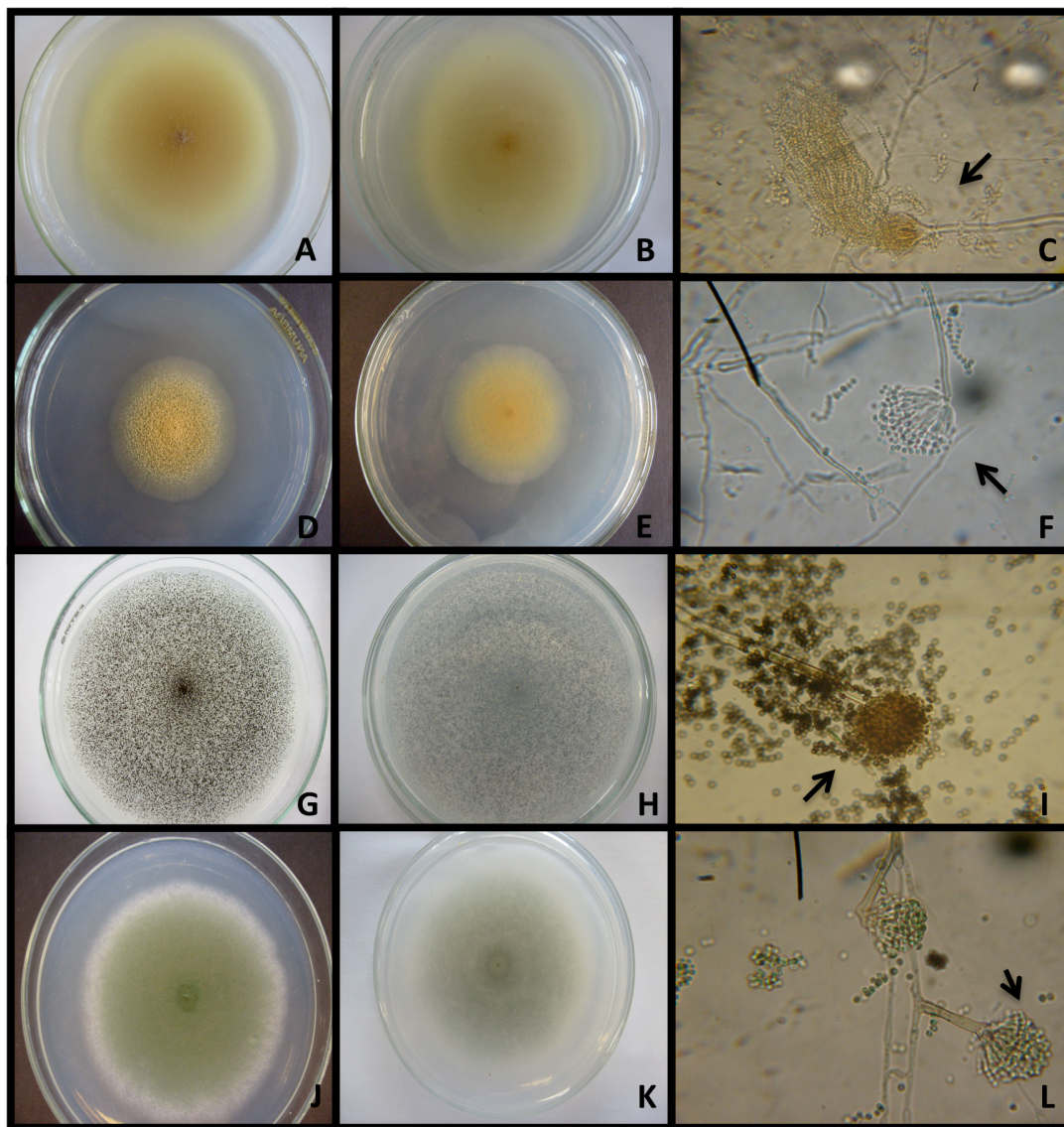
MACRO E MICROMORFOLOGIA DE ISOLADOS DO GÊNERO *Aspergillus* DE AMOSTRAS DE CAFÉ DO ESTADO DO PARANÁ (SAFRA 2005/2006)

FIGURA 2: Macro e micromorfologia de isolados de *Aspergillus* sp. de amostras de café do Estado do Paraná (safra 2005/2006), em meio BDA, com 7 dias de crescimento a 28°C.

Legenda: A, B, C: isolado AS1 – A) morfologia colonial do isolado AS1, mostrando o verso da colônia, B) reverso da colônia, C) conidióforo com aumento de 400X; D, E, F) isolado AS2 – D) morfologia colonial do isolado AS2, mostrando o verso da colônia, E) reverso da colônia, F) conidióforo, com aumento de 400X; G, H, I) isolado AS3 – G) morfologia colonial do isolado AS3, mostrando o verso da colônia, H) reverso da colônia, I) conidióforo, com aumento de 400X; J, K, L: isolado AS4 – J) morfologia colonial do isolado AS4, mostrando verso da colônia, K) reverso da colônia, L) conidióforo com aumento de 400X

APÊNDICE 3

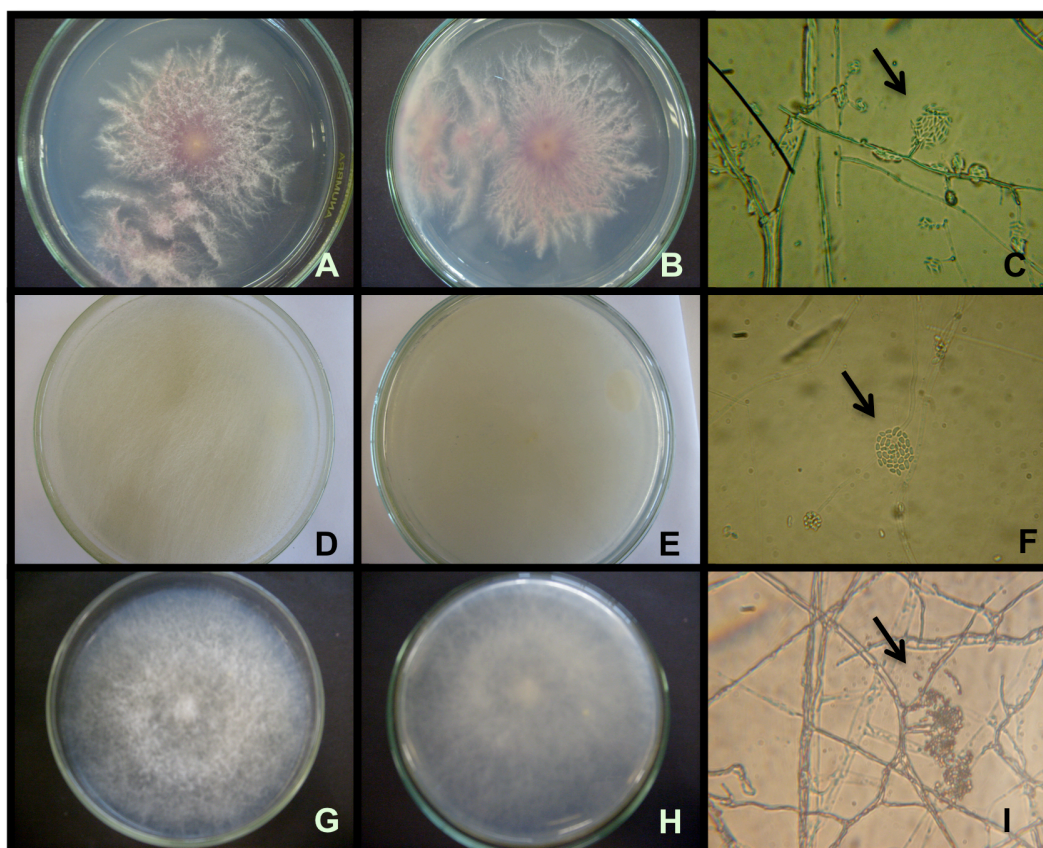
MACRO E MICROMORFOLOGIA DE ISOLADOS DO GÊNERO *Acremonium* DE AMOSTRAS DE CAFÉ DO ESTADO DO PARANÁ (SAFRA 2005/2006)

FIGURA 3: Macro e micromorfologia de isolados de *Acremonium* sp. de amostras de café do Estado do Paraná (safra 2005/2006), em meio BDA, com 7 dias de crescimento a 28°C.

Legenda: A, B, C: isolado AC1 – A) morfologia colonial do isolado AC1, mostrando o verso da colônia, B) reverso da colônia, C) conidióforo com aumento de 400X; D, E, F) isolado AC2 – D) morfologia colonial do isolado AC2, mostrando o verso da colônia, E) reverso da colônia, F) conidióforo, com aumento de 400X; G, H, I) isolado AC3 – G) morfologia colonial do isolado AC3, mostrando o verso da colônia, H) reverso da colônia, I) conidióforo, com aumento de 400X.

APÊNDICE 4

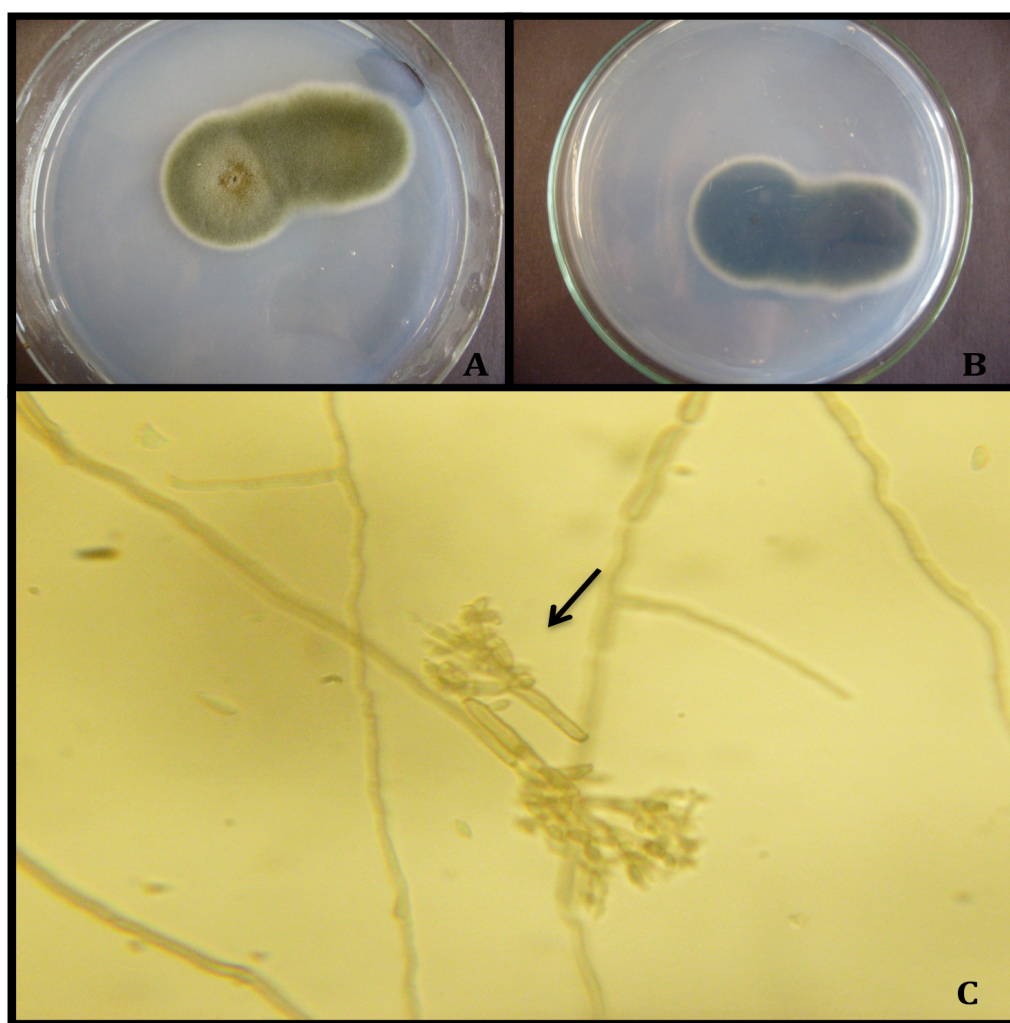
MACRO E MICROMORFOLOGIA DO ISOLADO DO GÊNERO *Cladosporium* DE AMOSTRAS DE CAFÉ DO ESTADO DO PARANÁ (SAFRA 2005/2006)

FIGURA 4: Macro e micromorfologia de isolado de *Cladosporium* sp. de amostras de café do Estado do Paraná (safra 2005/2006), em meio BDA, com 7 dias de crescimento a 28°C.

Legenda: A, B, C: isolado CL1 – A) morfologia colonial do isolado CL1, mostrando o verso da colônia, B) reverso da colônia, C) conidióforo com aumento de 400X.

APÊNDICE 5

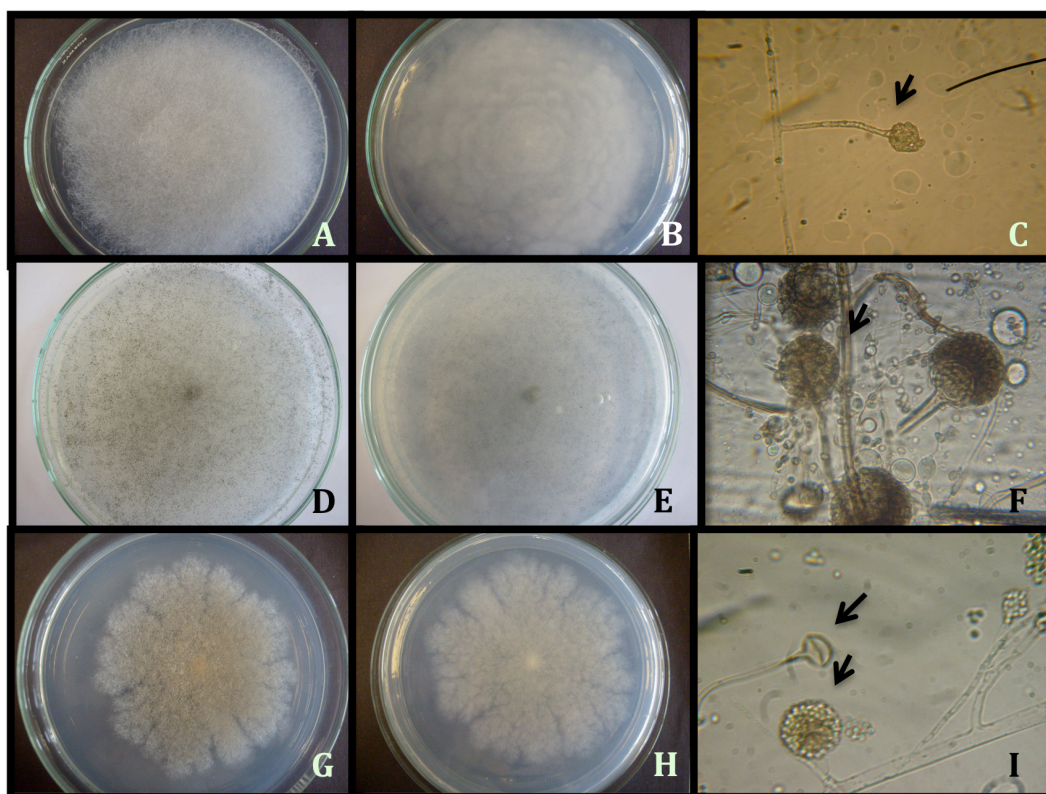
MACRO E MICROMORFOLOGIA DE ISOLADOS DO GÊNERO *Mucor* DE AMOSTRAS DE CAFÉ DO ESTADO DO PARANÁ (SAFRA 2005/2006)

FIGURA 5: Macro e micromorfologia de isolados de *Mucor* sp. de amostras de café do Estado do Paraná (safra 2005/2006), em meio BDA, com 7 dias de crescimento a 28°C.

Legenda: A, B, C: isolado MU1 – A) morfologia colonial do isolado MU1, mostrando o verso da colônia, B) reverso da colônia, C) esporângios com aumento de 400X; D, E, F) isolado MU2 – D) morfologia colonial do isolado MU2, mostrando o verso da colônia, E) reverso da colônia, F) esporângios com aumento 400X; G, H, I) isolado MU3 – G) morfologia colonial do isolado MU3, mostrando o verso da colônia, H) reverso da colônia, I) esporângios, com aumento de 400X.

APÊNDICE 6

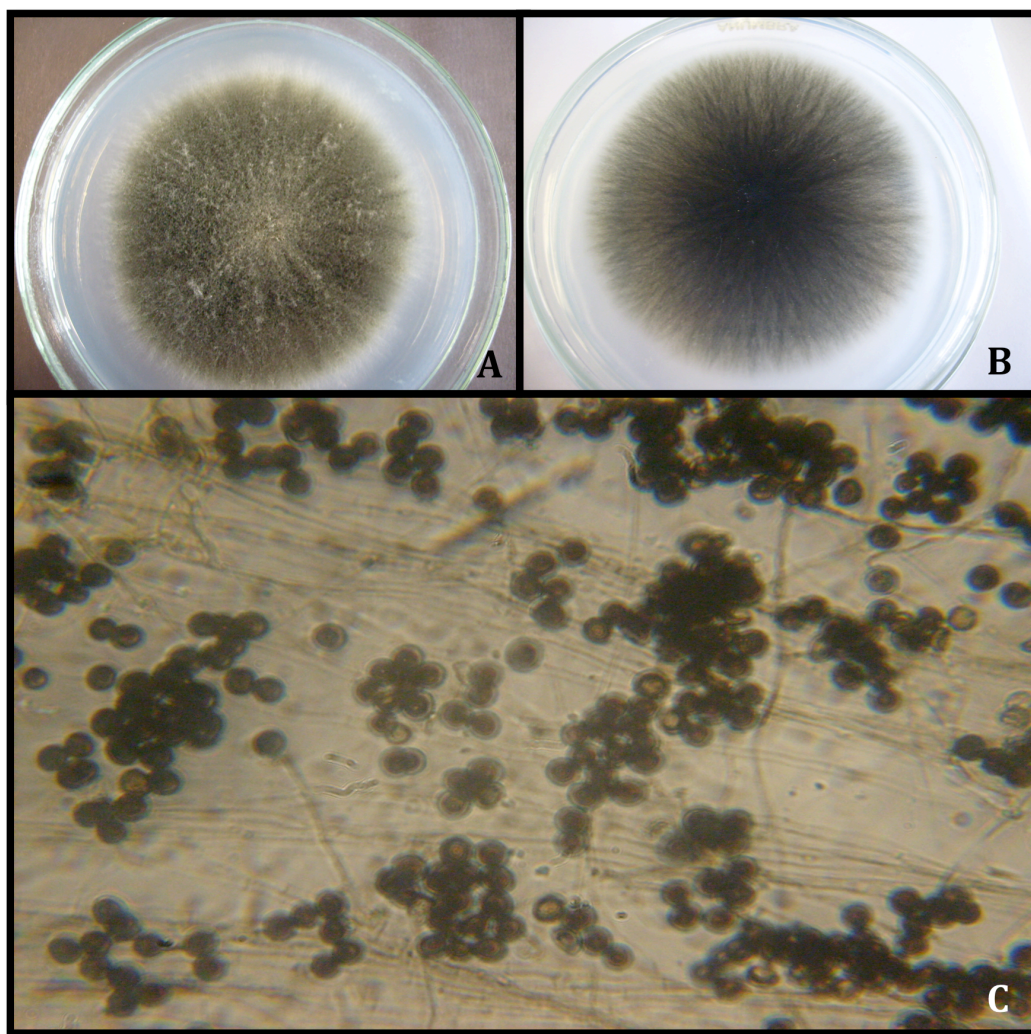
MACRO E MICROMORFOLOGIA DO ISOLADO DO GÊNERO *Nigrospora* DE AMOSTRAS DE CAFÉ DO ESTADO DO PARANÁ (SAFRA 2005/2006)

FIGURA 6: Macro e micromorfologia de isolado de *Nigrospora sp.* de amostras de café do Estado do Paraná (safra 2005/2006), em meio BDA, com 7 dias de crescimento a 28°C.

Legenda: A, B, C: isolado NI1 – A) morfologia colonial do isolado NI1, mostrando o verso da colônia, B) reverso da colônia, C) conidióforo com aumento de 400X.

APÊNDICE 7

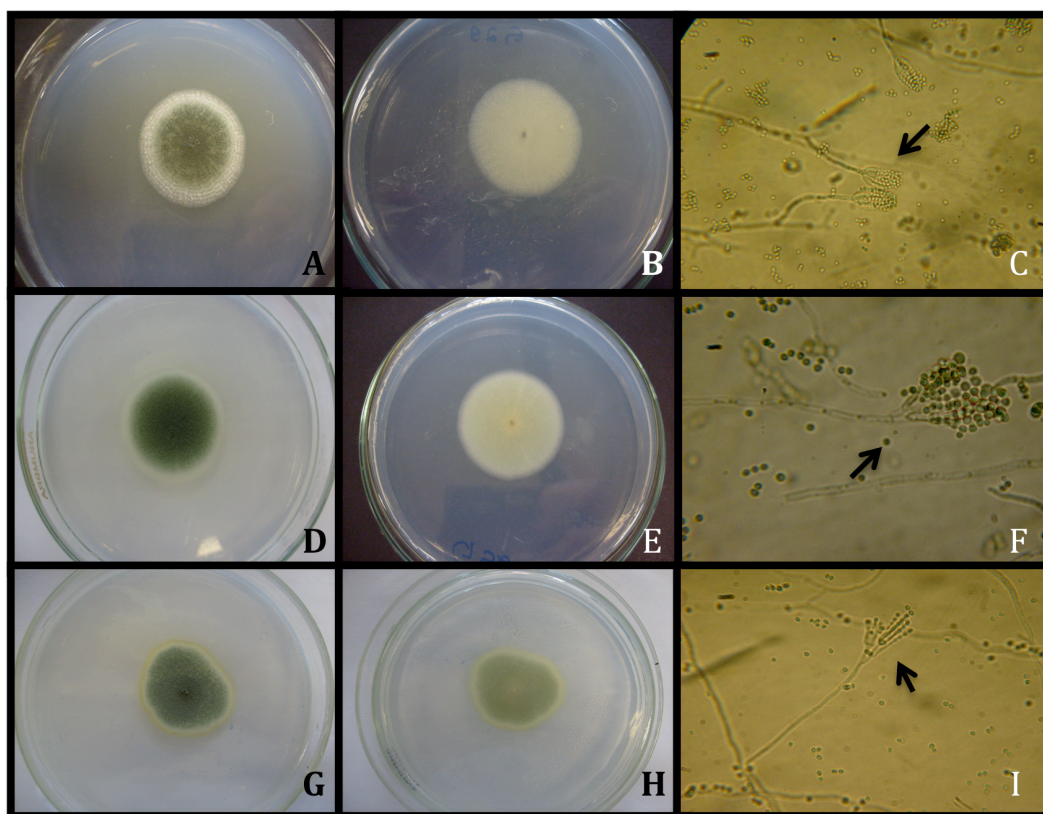
MACRO E MICROMORFOLOGIA DE ISOLADOS DO GÊNERO *Penicillium* DE AMOSTRAS DE CAFÉ DO ESTADO DO PARANÁ (SAFRA 2005/2006)

FIGURA 7: Macro e micromorfologia de isolados de *Penicillium* sp. de amostras de café do Estado do Paraná (safra 2005/2006), em meio BDA, com 7 dias de crescimento a 28°C.

Legenda: A, B, C: isolado PE1 – A) morfologia colonial do isolado PE1, mostrando o verso da colônia, B) reverso da colônia, C) conidióforo com aumento de 400X; D, E, F) isolado PE2 – D) morfologia colonial do isolado PE2, mostrando o verso da colônia, E) reverso da colônia, F) conidióforo, com aumento de 400X; G, H, I) isolado PE3 – G) morfologia colonial do isolado PE3, mostrando o verso da colônia, H) reverso da colônia, I) conidióforo, com aumento de 400X.

APÊNDICE 8

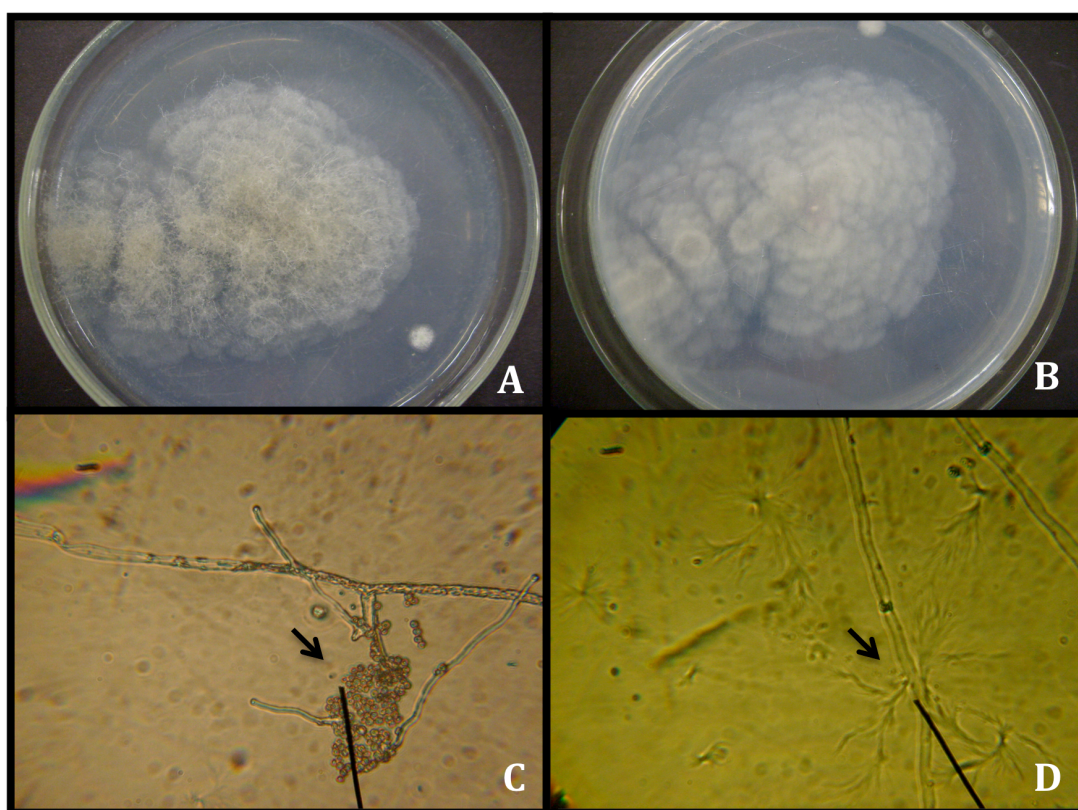
MACRO E MICROMORFOLOGIA DO ISOLADO DO GÊNERO *Rhizopus* DE AMOSTRAS DE CAFÉ DO ESTADO DO PARANÁ (SAFRA 2005/2006)

FIGURA 8: Macro e micromorfologia de isolados de *Rhizopus sp.* de amostras de café do Estado do Paraná (safra 2005/2006), em meio BDA, com 7 dias de crescimento a 28°C.

Legenda: A, B, C, D: isolado RH1 – A) morfologia colonial do isolado RH1, mostrando o verso da colônia, B) reverso da colônia, C) esporângios com aumento de 400X D) rizóides com aumento de 400X.

APÊNDICE 9

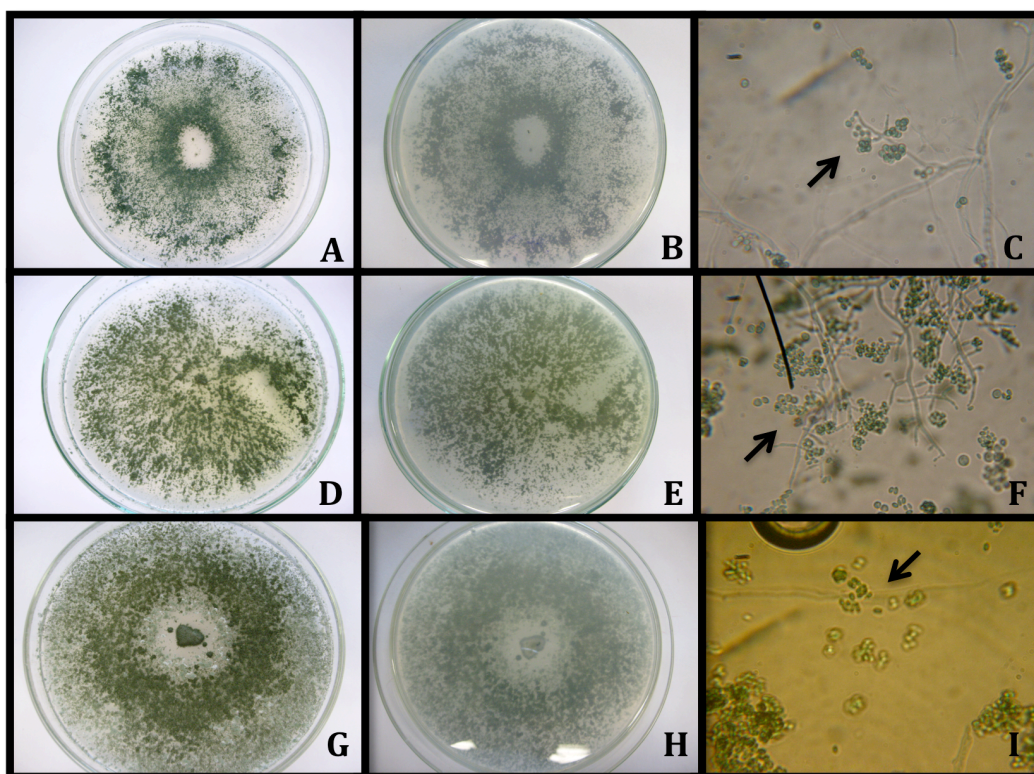
MACRO E MICROMORFOLOGIA DE ISOLADOS DO GÊNERO *Trichoderma* DE AMOSTRAS DE CAFÉ DO ESTADO DO PARANÁ (SAFRA 2005/2006)

FIGURA 9: Macro e micromorfologia de isolados de *Trichoderma* sp. de amostras de café do Estado do Paraná (safra 2005/2006), em meio BDA, com 7 dias de crescimento a 28°C.

Legenda: A, B, C: isolado TR1 – A) morfologia colonial do isolado TR1, mostrando o verso da colônia, B) reverso da colônia, C) conidióforo com aumento de 400X; D, E, F) isolado TR2 – D) morfologia colonial do isolado TR2, mostrando o verso da colônia, E) reverso da colônia, F) conidióforo, com aumento de 400X; G, H, I) isolado TR3 – G) morfologia colonial do isolado TR3, mostrando o verso da colônia, H) reverso da colônia, I) conidióforo, com aumento de 400X.

APÊNDICE 10

TESTE ESTATÍSTICO ANOVA SEGUIDO POR TESTE TUKEY, REALIZADO NAS AMOSTRAS DE CAFÉ *Coffea arabica* SAFRA 2005/2006.

EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO

QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	54	65.74920	1.21758	94.0191 **
Resíduo	165	2.13680	0.01295	
Total	219	67.88600		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

- significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

GL: 54, 165 F-krit(1%) = 1.632 F = 94.0191 $p < .00100$

MÉDIAS E MEDIDAS		
Amostras	Médias de tratamento	
34	2.40353	a
32	2.15173	ab
1	2.0292	bc
7	2.02212	bc
2	1.94882	bcd
13	1.97976	bcd
30	1.93135	bcd
3	1.83291	bcde
6	1.86178	bcde
36	1.8537	bcde
37	1.80182	cde
47	1.72259	cdef
4	1.68014	defg
50	1.65029	defgh
33	1.56158	efghi
55	1.55713	efghi
5	1.40221	fghij
27	1.36858	ghil
15	1.35842	ghim
53	1.32222	hin
8	1.27296	io
10	1.29265	io
12	1.29299	io
21	1.29489	io
35	1.27085	io
38	1.26638	io
39	1.29727	io
9	1.01365	p
11	1.02815	p
28	0.99	p
40	1.20433	p
41	1.04828	p
46	1.06732	p
48	1.01121	p
54	0.90138	p
14	0.48856	
16	0.62764	
17	0.85341	
18	0.50836	
19	0.67474	
20	0.48856	
22	0.42031	
23	0.42031	
24	0.34505	
25	0.38908	
26	0.34505	
29	0.77509	
31	0.82217	

42	0.77815
43	0.65581
44	0.53959
45	0.53258
49	0.82661
51	0.57083
52	0.68004

Legenda : DMS = 0.33122 MG = 1.17153 CV% = 9.71375

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

ANEXO

CULTIVO DO CAFÉ



1 a. Plantio do café em sistema adensado

Fonte : <http://www.pool.com.br>



1 b. Planta do café com frutos maduros (cereja).

Fonte : www.es.gov.br